ISOLEMENT ET CARACTERISATION DE SOUCHES DE STREPTOCOCCUS. APTITUDES TECHNOLOGIQUES.

L. MATOUB. L et M.M. BELLAL

Institut National Agronomique (INA) El-Harrach.

Résumé: Cette étude porte sur l'isolement et la caractérisation de souches de <u>Streptococcus</u> en vue de leur utilisation en technologie fromagère. Six souches de <u>Streptococcus</u> ont été sélectionnées à partir du lait cru et caractérisées. Leurs aptitudes technologiques ont été déterminées puis comparées à celles de souches de références. Les souches appartenant à l'espèce <u>Streptococcus diacetylactis</u> étaient capables de produire des quantités considérables de diacetyle par rapport aux souches appartiennent à <u>Streptococcus cremoris</u> et <u>Streptococcus lactis</u>. Par contre seules les souches appartenant à l'espèce <u>Streptococcus lactis</u>. Par contre seules les souches appartenant à l'espèce <u>Streptococcus lactis</u> abondantes dans le lait possèdent un pouvoir acidifiant et protéolytique développé. Ce qui laisse suggérer leur éventuelle utilisation dans la technologie fromagère.

Mots clés: Sélection, Caractérisation, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus diacetylactis*, Pouvoir acidifiant et aromatique.

Summary: Six strains of mesophilic lactic Streptococci are locally isolated from raw goat's milk and caracterized. The milk should be uncooked aim of thus experiment is to study the technilogical aptituds of these strains and compare them with imported from leben's starter.

This experiment shows that there is no big difference between the two strains. Strains of <u>Streptococcus lactis</u> seem to abound in raw milk and their acidificyng and proteolytic activities are more developed than <u>Streptococcus cremoris</u> ans Streptococcus diacetylactis.

Strains of <u>Streptococcus</u> diacetylactis are the only strain that able to produce considerable quantities of diacetyl.

Key words: Goat's milk, Isolation, Caracterization, Streptococcus lactis, Streptococcus cremoris, Streptococcus diacetylactis, Acidification, Proteolytic activity, Diacetyl.

INTRODUCTION:

Le lait, constitue un milieu de choix pour les micro-organismes dont le métabolisme conduit à la formation de produits qui, présents dans l'aliment, lui confèrent une valeur nutritionnelle plus élevée ou une possibilité de conservation plus longue.

La fermentation du lactose en acide lactique et la propriété de dégrader certaines substances (protéines, citrates etc...) par les bactéries lactiques, contribuent à acidifier les aliments et à leur conférer des propriétés aromatiques et texturales qui les rendent plus appréciées par les consommateurs. C'est surtout le cas du lait et de sa transformation en sous produits laitiers.

Les bactéries lactiques qui sont à la base de cette transformation doivent être mieux connues afin de maîtriser leur utilisation.

L'étude des bactéries lactiques passe par l'isolement, la caractérisation l'étude des aptitudes technologiques ainsi que le comportement en milieux industriel

Dans le but d'enrichir les levains industriels avec des souches ayant des propriétés intéressantes du point de vue technologique, la recherche s'oriente actuellement vers la mise en place de collections de bactéries lactiques issues de produits artisanaux ou locaux de bonne qualité.

A cet égard la laiterie algérienne demeure encore étroitement dépendante de laboratoires étrangers fournisseurs de ferments lactiques. En effet, chaque année l'Algérie importe des quantités excessives de ferments lactiques et ceci quel que soit leur prix, ainsi selon les données de L'Office Régional du Lait du Centre (ORLAC) de Birkhadem, le prix unitaire de ferments lactiques passe de 30.00 FF en 1978 à 98.00 FF en 1992 et augmente à 99.00 en 1994. Le besoin d'établir notre propre collection de souches locales de ferments lactiques est donc nécessaire.

Les connaissances actuelles sur la composition bactériologique portent essentiellement sur le lait de vache compte tenu de son importance économique au niveau mondial. Or d'autres productions de moindre importance mais de grand intérêt méritent d'être étudiées plus. Il s'agit en particulier du lait de chèvre.

Les caprins constituent le quatrième troupeau mondial. La production du lait de chèvre par rapport à la production d'autres espèces reste faible (1,6%). Elle est plus importante dans les pays en développement (3,8%) que dans les pays développés (0,6%).

Dans certains pays le lait de chèvre représente la majorité du produit comme au Niger et en Somalie et constitue un apport précieux de protéines d'origine animale. Il y a place à une amélioration considérable de cette production dans le futur, plus spécialement dans les zones à conditions climatiques et agronomiques difficiles.

Notre présent travail porte sur l'identification et la caractérisation des streptocoques lactiques mésophiles isolés localement à partir du lait de chèvre, et l'étude de quelques paramètres technologiques (acidification, activité protéolytique et aromatique). Le but est d'évaluer leurs performances, de les situer par rapport aux souches de référence et de contribuer à une éventuelle mise en place d'une collection de souches de bactéries lactiques locales issues du lait de chèvre.

MATERIEL ET METHODES:

Sources de prélèvement :

Les sources de prélèvement ont été le lait de chèvre, prélevé au jardin d'Essais El-Hamma d'Alger et d'une ferme de Bouzaréah.

Milieu d'isolement et de purification :

Le milieu favorable au développement des streptocoques lactiques est le M17.

Différentes phases d'isolement et de purification :

L'isolement des streptocoques lactiques est réalisé en profondeur sur milieu M17, à partir des dilutions décimales : 10⁻⁴ pour le lait cru et 10⁻⁸ pour le ferment. Le protocole détaillé et représenté dans le tableau I.

Conservation des souches :

Les souches isolées et purifiées sont transférées dans du lait écrémé reconstitué à 10% (P/V).

Le contenu de la culture est réparti dans plusieurs petits tubes qui sont incubés à 30°C; dès l'apparition de la coagulation ces derniers sont mis au congélateur à -18°C. Les souches sont ainsi conservées en attendant leur identification.

Tableau I: Phases d'isolement et de purification des souches.

Différents étapes	Mode Opératoire						
1	Solution mère (lait de chèvre frais). Réalisation de dilutions successives : 10 °, 10 °, 10 °						
2	Ensemencement en profondeur sur milieu M17. Incubation 30°C/48 heures.						
3	Observation microscopique d'une colonie distincte, par immersion après coloration de Gram						
	Ensemensement d'une colonie bien distincte dans du bouillon M17						
4	Incubation 30°C/24 heures.						
5	Purification de la souche après quatre repiquages sur milieu M17. L'incubation de chaque repiquage s'effectue à 30°C/24 heures. Isolement en forme de stries sur milieu M17. Incubation a 30°C/24 heures.						
6	Purification de la souche après quatre repiquages sur milieu M17. L'incubation de chaque repiquage s'effectue à 30°C/24 heures. Une colonie purifiée transférée dans du lait écrémé stérile reconstitue a 10% (P/V). Incubation à 30°C/24 heures.						
7	Après coagulation, les tubes sont conservées au congélateur à -18°C en attendant leur identification						

Identification des souches :

Les testes d'identification selon les caractères physiologiques et biochimiques effectués sont ceux préconisés par Guiraud et Galzy (1980) et Cherpenet, (1982).

Etude des aptitudes technologiques : a) Pouvoir acidifiant :

Le pouvoir acidifiant d'une souche est un critère primordial de sélection des souches car il se trouve à la base de la technologie laitière, cette acidification est quantifiée par la mesure de l'acidité Dornic et du pH (Lucas et Rayrolle, 1989 et Pieque et al. 1992).

b) Pouvoir protéolytique :

L'hydrolyse enzymatique des protéines du lait se traduit par la libération des peptides et des acides aminés. Ces derniers sont estimées en équivalent tyrosine selon la méthode de Anson, (1938) décrite par Tourneur (1972).

Les protéines du lait sont précipitées par l'acide trichloroactique à 4% (P/V). Après filtration, la tyrosine présente dans le filtrat est dosée par colorimétrie au moyen de réactif de Folin-Ciocalteu (acide phospho-tyngstomolybdique). Ce dernier en présence de groupement phénolique est réduit en un complexe bleu.

La teneur en tyrosine du filtrat est exprimée par comparaison avec une courbe étalon de tyrosine pure.

c) Production de diacétyle :

Les bactéries lactiques produisent

diverses substances aromatiques dont le diacétyle qui constitue le composant le plus important (Joey et Al, 1994) d'ou la nécessité de doser le diacétyle par distillation fractionnée Prill Hammer, (1938) cité par Walsh et Cogan, (1974).

La quantification du diacétyle, est réalisée, par la méthode colorimétrique de Walsh et Cogan (1974) préconisée par Bassit et al (1994).

Le diactéle produit dans le lait en présence d'hydroxylamine est converti en diméthylglyoxime qui en milieu alcalin est en présence de FeSO4 développe une coloration rosâtre dont l'absorption est mesurée par colorimétrie à la longueur d'onde de 520nm.

La teneur en diacétyle est déterminée suit à la comparaison à une courbe étalon établie avec le diacétyle pur.

RESULTATS ET DISCUSSION:

Identification des souches isolées :

En nous basant uniquement sur les caractères culturaux (croissance sur milieu sélectif M17) et morphologiques (aspects des colonies et observation des cellules au microscope optique), nous avons pu isoler plus de 25 souches. Parmis ces souches 10 seulement répondent aux caractères suivants :

- ne possèdent pas de catalase.
- les cellules sont Gram+, est se présentent sous forme de diplocoque ou de coccies en chaînettes plus ou moins longues.

Parmi ces 10 souches, 4 souches dites de référence ont été isolées du ferment pour leben industriel et les 6 autres souches ont été isolées du lait de vache cru.

D'après les résultats des caractères culturaux, morphologiques, physiolo-

giques et biochimiques une distinction suffisante peut être effectuée pour se rapprocher des espèces *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris* et *Streptococcus diacetylactis* conformément aux travaux de Cherprenet (1982), (Tableau II).

Tableau II: Identification des 10 souches de Streptocoques.

Espèces	Souches locales	Souches de references
Streptococcus lactis	STL1, STL2, STL3	STL4, STL5
Streptococcus cremoris	STC1, STC2	STC3
Streptococcus diacetylactis	STD1	STD2

Parmi les 6 souches de streptocoques lactiques mésophiles identifiées à partir du lait de chèvre, nous remarquons que l'espèce S. lactis est plus abondante (50%) par rapport à l'espèce S. cremoris (33,33%), cependant S. diacetylactis est la moins abondante (16,66%) par rapport à l'ensemble des trois espèces isolées localement.

Nos résultats se rapprochent de ceux de Fatichenti et al, (1979) qui stipulent que les espèces *S.lactis*, *S. cremoris* et *S. diacetylactis* atteignent des valeurs très élevées dans le lait cru (de l'ordre de 10⁶ de la flore totale).

De plus Sebly-Smith, (1975) et Tyfour et al, (1981), montrent que l'espèce *S. lactis* est encore plus abondante que les deux autres espèces dans le lait cru.

Aptitudes technologiques:

Les résultats expérimentaux de ce test ont été rapportés dans le tableau III, on remarque que :

- les souches les plus acidifiants appartiennent à l'espèce *S. lactis* à l'exception de la souche STL1 qui paraît relativement faible : 75°D après 24 heures d'incubation.
- l'acidité maximale observée après 24 heures d'incubation est de 93°D, produite par la souche de référence STL5, cependant pour la souche locale STL2 on note une acidité de 91°D. Les pH respectifs sont : 4 et 402.
- les souches les moins acidifiantes appartiennent à l'espèce *S. cremoris* l'acidité de la souche locale ne dépasse pas 64°D correspondant à un pH de 4,65.

Tableau III : Aptitude à l'acidification des souches de Streptococcus testées en °D (**)

Espèce	Souches	Acidité °D produite après :						
		2h	4h	6h	8h	10h	12h	24h
	STLI	20	21	29	34	37	40	75
Streptococcus	STL2	20	24	39	64	84	86	91
lactis	STL3	21	22	30	38	45	50	85
	STL4*	22	25	33	61	80	82	59
	STL5*	23	26	45	65	85	89	93
Streptococcus cremoris	STCI	20	24	29	36	42	52	67
	STC2	18	22	26	33	39	49	64
	STC3*	23	24	31	37	44	56	71
Streptococcus diacetylactis	STD1	22	24	29	31	39	42	65
	STD2*	19	21	25	32	40	45	68

^{* :} souches de références.

Nous remarquons que les phases de latence pour toutes les souches (fig.1) est d'environ 2 heures, la phase exponentielle dure 10 heures pour les souches les plus acidifiantes et s'étalent sur douze heures pour toutes les autres souches.

Les souches les plus acidifiantes appartiennent à l'espèce *S. lactis*. En effet, Cogan (1980) montre que les bactéries lactiques acidifiantes sont généralement les souches appartenant à l'espèce *S.lactis*.

Les souches les moins acidifiantes appartiennent à l'espèce S.diacetylactis. Cependant, selon Bidal (1989), l'activité de quelques souches appartenant à l'espèce S.cremoris n'est pas négligeable.

Par ailleurs, il est intéressant de constater que d'après les résultats obtenus il n'existe pas de différences notables entre les souches locales isolées du lait de chèvre et les souches de références provenant du ferment pour leben industriel particulièrement en ce qui concerne les espèces *S.cremoris* et *S.diacetylactis*.

La vitesse d'acidification est faible pour la plupart des souches. Effectivement les Streptocoques lactiques en cultures simples (souches pures) sont témoins généralement d'une lenteur dans la production d'acide. Un enrichissement du lait en hydrolysat de caséine ou en extrait de levure apporterait des facteurs de croissance des bactéries lactiques (acides aminés vitamines) (selby, smith, 1975 et cogan, 1980).

L'utilisation de cultures mixtes est conseillée, vu l'effet symbiotique observé chez certaines souches.

Le pouvoir acidifiant dépend des facteurs nutritionnels, des conditions physico-chimiques du milieu, de l'âge du ferment et du taux d'ensemencement (Pieque et al 1992).

^{(**):} toutes les valeurs représentent la moyenne de trois essais suffisamment rapprochés.

Bien que les valeurs d'acidité trouvées aient été jugées faibles, toutes les souches arrivent à coaguler le lait.

Pouvoir protéolytique :

Les résultats de cette expérience ont été rapportés dans le tableau IV, l'activité protéolytique paraît importante chez les souches appartenant à l'espèce *S.lactis*. En effet on note une acti-

vité protéolytique respective de STL2 souche locale et STL5 souche de référence de 3,5 ppm et de 4,1 ppm d'équivalent tyrisine après 96 heures d'incubation.

Cependant toutes les souches appartenant aux espèces *S.cremoris* et *S.diacetylactis* possédent une activité protéolytique qui ne dépasse pas 2,35 ppm d'équivalent tyrosine.

Tableau IV: Activité protéolytique des souches de *Streptococcus* testées en équivalent tyrosine : ppm/ml de filtrat (**)

Espèces	Souches	Equivalent en tyrosine ppm/ml de filtrat après:					
	1	24h	48h	72h	96h		
	STLI	0,55	1,80	2,45	2,65		
Streptococcus	STL2	0,35	2,15	3,35	3,60		
lactis	STL3	0,80	2,25	2,75	2,95		
	STL4*	0,90	2,65	3,40	3,75		
	STL5*	1,55	2,95	3,85	4,10		
Streptococcus	STC1	0,45	1,25	1,85	2,00		
cremoris	STC2	0,40	1,45	2,10	2,20		
	STC3*	0,65	1,55	2,25	2,35		
Streptococcus	STD1	0,30	0,95	1,65	1,89		
diacetylactis	STD2*	0,20	1,35	2,00	2,15		

^{* :} souches de références.

^{(**):} toutes les valeurs représentent la moyenne de trois essais suffisamment rapprochés.

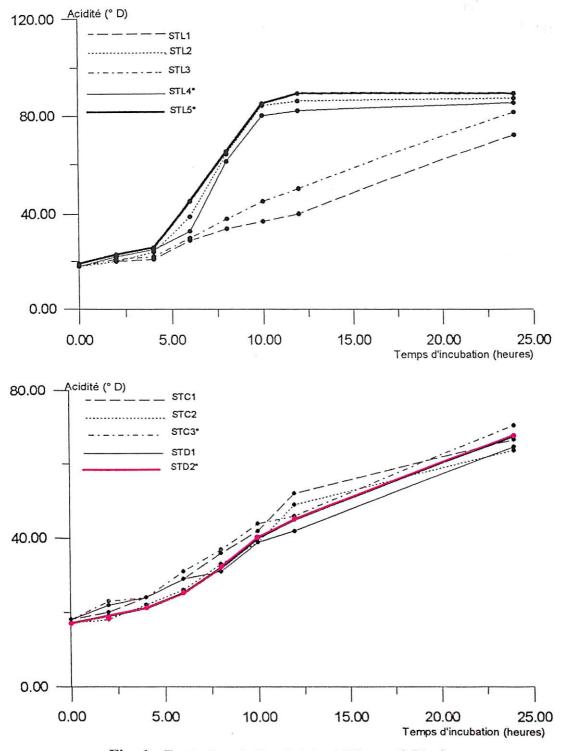


Fig. 1 : Evolution de l'activité acidifiante (° D) chez S.lactis, S.cremoris et S.diacetylactis

Grâce à leurs protéinases les bactéries lactiques sont à l'origine de quantité appréciables d'azote soluble composé essentiellement d'acides aminés et de peptides.

En effet, nous constatons un accroissement de la teneur en acides aminés et peptides exprimée en équivalent tyrosine en fonction du temps d'incubation.

Nous remarquons que la phase de latence où l'activité n'évalue que lentement est variable, d'une souche à l'autre (Fig 2), elle est plus longue chez les souches appartenant aux espèces S. cremoris et S. diacetylactis.

Les souches appartenant à l'espèce S.lactis possèdent une activité protéolytique plus développée par rapport aux autres souches. Cependant Law et al (1974), ont décrit la libération d'une dipeptidase intracellulaire de S.cremoris au cours de l'affinage du fromage cheddar.

Nous remarquons une hétérogénéité de l'activité protéolytique des souches locales et de références appartenant à l'espèce S.lactis par contre les souches appartenant aux espèces S.cremoris et S.diacetylactis ne présentent pas de différences notables.

Selon Lusiani et al (1971) et Alais (1984), S.lactis possède une faible activité protéolytique comparée aux lactobacilles qui jouent un rôle important dans la maturation de fromages.

En effet, Tourneur (1972) trouve pour l'espèce *L.helveticus* une teneur variant de 6 à 8 mg d'équivalent tyrosine par millimètre de filtrat au bout de 72 heures d'incubation.

Toutes fois selon Choisy et al (1987), les streptocoques lactiques ont une activité protéolytique appréciables, celle-ci est cependant variable selon les souches et cette variabilité à des répercutions dans la production fromagère.

L'activité fromagère des streptocoques lactiques dans les fromages frais s'ajoute à celle de la présure pour dégrader la caséine. En effet, les peptides de haut et de bas poids moléculaires libérés par la présure, sont repris par les streptocoques lactiques et à leurs tours dégradés en acides aminés et courts peptides utilisés par la flore protéolytique (Lusiani 1971).

Pouvoir aromatique:

Les résultats représentés sur le tableau V montrent que les appartenant à l'espèce *S. diacetylactis* sont les plus grandes productrices de diacetyle.

La quantité maximale de diacetyle est produite entre 16 et 18 heures d'incubation, la souche de référence paraît plus performante que la souche locale STD1.

En effet, la souche de référence produit 0,93 ppm de diacetyle après 18 heures d'incubation.

Le diacetyle est un composant d'arôme très recherché dans le beurre qui lui donne son «goût de noisette» apprécié, et contribue ainsi à la qualité organoleptique des produits laitiers frais.

D'après le tableau V, nous remarquons que les souches appartenant à l'espèce S. diacetylactis produisent des

quantités considérables de diacétyle. En effet, Thomothy et cogan, (1981) affirment que l'espèce *S. diacetylactis* et *Leuconestoc citrovorum* produisent à partir des citrates des composants d'arôme, dont le diacetyle.

Nous remarquons d'après la figure 3 que les deux souches STD1 et STD2 ont des courbes de même allure : on observe tout d'abord, une augmentation de la production de diacetyle jusqu'à atteindre une teneur maximale entre 16 et 18 heures d'incubation correspondant à la disparition du citrate dans le milieu, ensuite on observe une diminution qui serait due d'une part à l'épuisement du citrate dans le milieu

et d'autre part à l'effet de la diacetyle réductase qui réduit le diacetyle en acétoine.

Walsh et Cogan (1973) ont soulignée la pauvreté du lait en citrate (1,7 mg/l). L'addition du citrate permet l'augmentation de la production du diacetyle.

D'après Parck et al (1968), l'activité de la diacetyle réductase serait inhibée à basse températures (2°C), il convient donc de refroidir très rapidement les produits laitiers frais, tout en combinant cette opération avec le maximum de production de diacetyle.

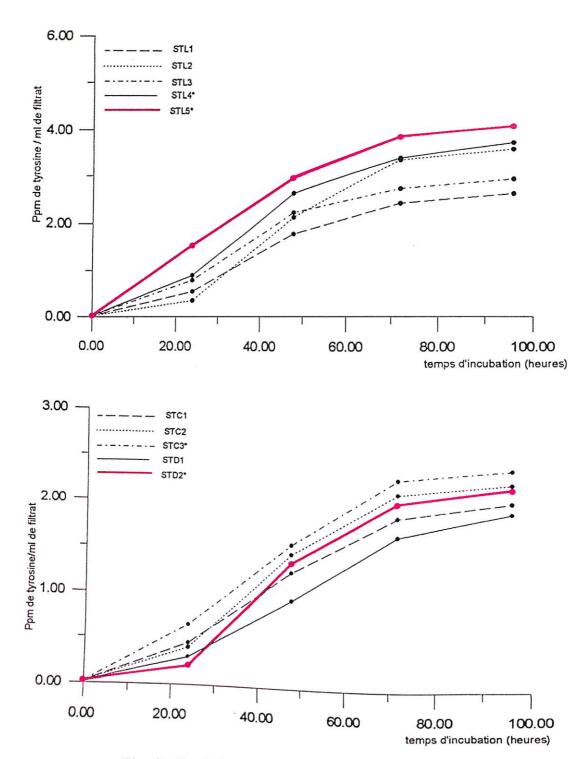


Fig. 2 : Evolution de l'activité protéolytique chez S.lactis, S.cremoris et S.diacetylactis

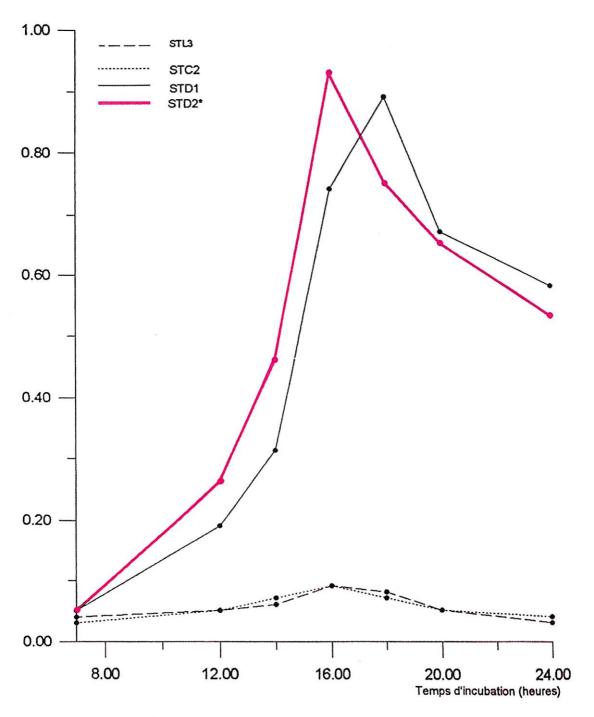


Fig. 3 : Evolution de la production du diacétyle chez S.lactis, S.cremoris et S.diacetylactis

Tableau V: Production de diacetyle des souches de *Streptococcus* en équivalent de diacetyle : ppm/ml de distillat (**).

Espèce	Souches	Equivalent de diacetyle ppm/ml de distillat après :						
	1	7h	12h	14h	16h	18h	20h	24h
	STLI	0,03	0,03	0,05	0,06	0,05	0,03	0,02
Streptococcus	STL2	0,03	0,03	0,07	0,09	0,08	0,06	0,04
lactis	STL3	0,04	0,05	0,06	0,09	0,08	0,05	0,03
	STL4*	0,03	0,05	0,06	0,07	0,05	0,04	0,03
	STL5*	0,04	0,06	0,08	0,10	0,07	0,06	0,05
Streptococcus cremoris	STC1	0,03	0,04	0,05	0,07	0,06	0,04	0,03
	STC2	0,03	0,05	0,07	0,09	0,07	0,05	0,04
	STC3*	0,03	0,04	0,08	0,11	0,08	0,06	0,05
Streptococcus diacetylactis	STD1	0,05	0,19	0,31	0,74	0,89	0,67	0,58
	STD2*	0,05	0,26	0,46	0,93	0,75	0,65	0,53

^{* :} souches de références.

Des relations complexes existent entre les aptitudes technologiques étudiées :

- les souches appartenant à l'espèce S.lactis ont une activité protéolytique plus développées par rapport aux autres souches; ceci paraît être expliqué par le fait que S.lactis possède un équipement enzymatique complexe dont la vitesse de protéolyse du lait augmente le taux de substances azotées facilement assimilable permettant ainsi un taux de croissance maximal (Lynette, 1975) et par conséquent une production maximale d'acide.
- parmi les souches isolées, seules celles appartenant à l'espèce S. diacetylactis produisent des quantités considérables de diacetyle. Il existe une relation entre la production de diacetyle et le pouvoir acidifiant. En effet, Walsh et Cogan (1973) montrent que la diacetyle réductase est plus active à pH acide (protéase acide). Alors que

Bassi et al (1994) ont trouvé que la production maximale de diacetyle est à 18°C et en présence de 100% d'oxygène, tandis que la vitesse d'acidification la plus importante est observée à 30°C et en absence d'oxygène.

De nombreux levains sont constitués de deux types de bactéries lactiques, l'un étant résponsable de la production d'acide (S.lactis et S.cremoris) et l'autre de la production d'arôme (Leuconostoc et S.diacetylactis).

Par ailleurs, selon Pointurier et Adda (1986), les ferments mixtes du commerce destinés à la fabrication du beurre ont une population de *S.lactis* et *S.cremoris* qui représentent au départ 0,1 à 90% du nombre total des bactéries lactiques. La production optimale des ferments producteurs d'arôme semble être de 20 à 30% pour *S.diacetylactis* et 5 à 10% pour Leuconostoc.

^{(**):} toutes les valeurs représentent la moyenne de trois essais suffisamment rapprochés.

CONCLUSION:

La présente étude a permis de caractériser six souches de Streptocoques lactiques mésophiles isolés localement à partir du lait de vache cru. Ce dernier constitue un habitat de choix pour les Streptocoques lactiques.

L'identification des souches par la méthode classique (aspects morphologiques, caractères physiologiques et biochimiques) a montré que, bien que toutes les souches aient été isolées du même habitat, elles représentent néanmoins des différences telles que : l'hydrolyse de l'arginine, la production de CO2 à partir du lait citraté et la production d'acetoine qui, nous ont permis de définir trois espèces appartenant aux Streptocoques lactiques mésophiles : Streptococcus lactis, Streptococcus cremoris et Streptococcus diasetylactis.

L'étude des aptitudes technologiques des souches locales et celles de références a montré qu'il n'existe pas de différence notable entre les souches isolées du lait de chèvre et celles de références.

Nous avons remarqué que l'espèce Streptococcus lactis avait un pouvoir protéolytique plus développé que Streptococcus cremoris et Streptococus diacetylactis, cette dernière est plus apte à produire du diacetyle.

L'instabilité des aptitudes technologiques chez les Streptocoques mésophiles ne permet pas de garantir la régulation des produits finis. Des études portant sur la manipulation génétique de ces caractères permettraient de maintenir la stabilité des aptitudes technologiques des levains lactiques.

Les souches obtenues méritent d'être étudiées de façon plus approfondie et plus précisément en fonction des aptitudes technologiques non abordées dans ce travail comme par exemple : la production de substances induisant une augmentation de la viscosité, le rendement en culture continue, le rendement à la lyophilisation et autres traitements de conservation.

Références bibliographiques :

Alais C. (1984). Science du lait, principes des techniques laitières. Ed. SEPAIC IV.

Bassi N. Latrille E. Boquieu C.Y. Pieque D. et Courieu G. (1994). Effet combiné de l'oxygène et de la température sur l'acidification et la production du diacetyle et d'acétoine par Lactococcus lactis supsp lactis biovar diacetylactis. Rev. Lait, 74, 115-126.

Bidal B. Kapp C. Goma G et Pareilleux A. (1989). Continouse culture of Streptococcus cremoris on lactose using variouse medium conditions. Applied Microbiology and Biotechnology, 32, 155-159.

Cherprenet J. (1982). Contrôle du lait et des produits laitiers, bactéries lactiques. Ed. CNDP, 155-205.

Choisy C. Desmaseaud M. Gripon J.C. Larberet G. Lenoir J et Colette T. (1987). Les phénomènes microbiologiques et enzymatiques de la biochimie de l'affinage. Le fromage. 2èm Ed, 62-68.

- Cogan T.M (1980). Les levains lactiques mésophiles. Une revue. Rev Le lait, 60, 397-425.
- Fatichenti F. Deiana P. Farris G. A et Soggia G. (1979). Etude microbiologique sur le lait et le fromage de chèvre en Sardaigne. Note II : Streptocoques, Lactobacilles et Leuconostoc. Rev Le lait, 587, 387-399.
- Guiraud J et Galzy P. (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Ed Usine Nouvelle, Paris, 239.
- Law B.A. Sharpe M. E et Pieter B. (1974). The relase intracellular dipeptidase from starter Streptococci during cheddar cheese repening. Journal of Dairy Research, 43, 141-193.
- Lucas S et Reyrolle J. (1989). Effet d'un lot de ferments lactiques mésophiles. Equilibre des flores au cours de la première étape de la fabrication du levain. Rev Lait, 62(2), 121-130.
- Lusiani G. Bianchi-Salvadori B et Salvadori P. (1971). Activité protéolytique de quelques micro-organismes responsables de la maturation des fromages persillés. Rev Lait, 62 (2), 431-436.
- Lynette M. (1975). Peptidase activities in group N Streptococci. Journal of Dairy Research, 42, 147-155.
- Pack M. Y. Vedamuthu E.R. Sandine W. E et Elliker P. R. (1986). Journal of Dairy Research, 51, 339.
- Pieque D. Perret B. Latrille E et Gorrieu G. (1992). Caractérisation et classification des bactéries lactiques à partir de la mesure de leur cinétique d'acidification. Lebensem-Wiss-Technol, 25, 281-286.

- Poiturier H et Adda J. (1986). Beurrerie industrièlle. Science et technique de la fabrication du beurre, 44-71.
- Selby Smith J. Hillier A. J et Lees G. J. (1975). The nature of the stimulation of the growth of Streptococcus lactis by yeast extract. Journal of Dairy Research, 42, 123-138.
- Timothy M et Cogan. (1981). Constitutive nature of the enzymes of citrate metabolism in Streptococcus lactis subsp biavar diacetylactis. Journal of Dairy Research, 48, 189-195
- **Tourneur C. (1972).** Aptitude à la protéolyse des lactobacilles présents dans les fromages et les lactosérums de fromagerie. Rev Lait, 513, 149-175.
- Tyfour A. Millière J. B et Veillet Poncet L. (1981). Etude comparative du comportement de Streptococcus lactis, Streptococcus Thermophillus et Lactobacillus bulgaricus dans les laits et les rétentats pasteurisés après stockage à l'état cru à basse température. Rev Lait, 61, 149-170.
- Walsh B et Cogan T. M. (1974). Separation and estimation of diacetyl and aceton in milk. Journal of Dairy Research, 41, 25-30.
- Walsh B et Cogan T. M. (1973). Diacetyl, aceton and acetaldehyde production by mixed species lactis starter culturs. Appl Microbiol, 25(5), 820-825.